

USO DE TÉCNICAS AVANZADAS DE ANÁLISIS DE IMÁGENES PARA CARACTERIZAR LA DISPERSIÓN DE UN SISTEMA MODELO DEL CULTIVO PARA LA PRODUCCIÓN DE NEMATODOS ENTOMOPATÓGENOS EN UN TANQUE AGITADO

Gabriela Maciel Vergara¹, Norberto Chavaría-Hernández¹, María Soledad Córdova-Aguilar² y Enrique Galindo²

¹Centro de Investigaciones en Ciencia y Tecnología de Alimentos, ICAP, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, ²Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México
Apdo. Postal 510-3, Cuernavaca, Morelos, 62250, MEXICO
Fax: (52)(777) 3 13 88 11, e-mail: cordova@ibt.unam.mx

Palabras clave: dispersión, imágenes, nematodos.

Introducción. Los nematodos entomopatógenos (NEPs) del género *Steinernema* spp. son enemigos naturales de diferentes insectos, por lo que se utilizan como agentes de control biológico contra insectos-plaga que atacan cultivos de maíz, almendras, fresas, cultivos de invernadero, papa y caña de azúcar, entre otros (1). La producción de NEPs se hace por lo general en biorreactores con agitación neumática, aunque también se utilizan tanques agitados mecánicamente. En este trabajo se utilizó la técnica de análisis de imágenes/microscopía para la caracterización de la dispersión de un sistema modelo de agitación mecánica que simula la producción del nematodo *Steinernema carpocapsae*, con la finalidad de estudiar la dispersión de los componentes del medio utilizando nematodos en diferentes estadios de su desarrollo.

Metodología. Se diseñó un sistema modelo en base a las concentraciones iniciales de los componentes del medio de producción. El sistema modelo diseñado consistió en una solución de NaCl al 0.5 %, 8.2 % v/v de aguamiel y 2.5 % v/v de aceite de maíz. La yema de huevo se sustituyó por albúmina bovina debido a que las partículas de yema ocasionan turbidez y dificultan la segmentación de objetos. Se utilizó un tanque de 1.2 L equipado con un impulsor de paletas inclinadas D/T = 0.33, 4 baffles y un difusor sinterizado. Las imágenes se tomaron bajo las condiciones de operación similares al tanque de producción, para lo cual se estimó la potencia suministrada por medio de un dinamómetro. La velocidad de agitación fue de 8.45 rps y la aireación de 1 vvm. Se cultivaron nematodos en tres etapas de su ciclo de vida (I, J1 y adultos) para ser utilizados como fase sólida. Se adquirieron imágenes de los sistemas modelos trifásicos con un sistema de visión estéreo-microscópica (2) y videos de 200 imágenes (512 x 512) con el sistema de video-endoscopia de alta velocidad (3) para los sistemas con nematodos (4 fases). Las imágenes adquiridas de los diferentes sistemas se procesaron, segmentando manualmente los objetos para así determinar la distribución de tamaños de gotas y burbujas.

Resultados y discusión. El diámetro Sauter de las gotas de aceite y de las burbujas de aire disminuyó notablemente en los sistemas con aguamiel, debido a que la tensión superficial del sistema también disminuye. En los sistemas con NEP's, el diámetro Sauter de las gotas fue de 430 μm y el de las burbujas de 590 μm . Con la técnica micro-estereoscópica, se determinó hasta un 15 % de burbujas dentro de las gotas. En la Figura 1 se presenta una secuencia de imágenes adquiridas por video-endoscopia de

alta velocidad que permite apreciar que no hay fragmentación de los nematodos. También fue posible registrar la formación de gotas multifásicas (conteniendo burbujas de aire y pequeñas gotas de agua) dentro del tanque.



Figura 1. Secuencia de imágenes

En la Figura 2 se presenta una imagen de *S. carpocapsae* en fase adulta después de 45 min de agitación a 8.45 rps, donde se puede apreciar que no está fragmentada.



Figura 2. Hembra de *Steinernema carpocapsae*

Conclusiones. La agitación mecánica no causó fragmentación de los nematodos. La presencia de compuestos como el aguamiel y la proteína disminuye notablemente el tamaño de las gotas de aceite y las burbujas de aire.

Agradecimiento Trabajo financiado por CONACyT U44098-Z. Apoyo técnico de B. Taboada y L. Vega-Alvarado. Beca de G. Maciel para XVI Verano de la Investigación Científica, Academia Mexicana de Ciencias.

Bibliografía

- Ehlers, R.U. (2001) Mass production of entomopathogenic nematodes for plant protection. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 56: 623 – 633.
- Brière, J. B., Córdova, M.S., Galindo, E. and Corkidi, G. (2005) Micro-stereoscopic vision system for the determination of air bubbles and aqueous droplets density within oil drops in simulated processes of multiphase fermentations. *5th International Conference on 3D Digital Imaging and modelling 3 DIM Conference*. June, Ottawa, Ontario, Canada.
- Taboada, B., Córdova-Aguilar, M.S., Galindo, E., Corkidi, G. (2006) Aplicación de la videoendoscopia de alta velocidad en la visualización de las interacciones complejas que se llevan a cabo en sistemas multifásicos. XXI Congreso de Instrumentación SOMI, Ensenada, Baja California, México.